

ESTUDIO DE LAS ESPORAS DE UROMYCES CARYOPHYLLINUS

(Schr.) WINT. AL MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO,
SEM.

M. Molinas - R. Fontarnau

(Microscopia Electrónica de la Universidad de Barcelona)

ESTUDIO DE LAS ESPORAS DE UROMYCES CARYOPHYLLINUS (Schr.) Wint.
AL MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO, SEM.

El objeto de este estudio es el análisis de los caracteres morfológicos de las uredo y teleutosporas de Uromyces caryophyllinus (Schr.) Wint, agente causante de la roya del clavel; y su posible utilización en la distinción de variedades o poblaciones geográficas en la zona de El Maresme.

El microscopio ordinario, el microscopio de contraste de fases y el de interferencia han sido los elementos básicos para el estudio morfológico de los hongos. Sin embargo, el límite que impone su poder de resolución y el pequeño tamaño de las esporas, hacen que a menudo los detalles finos de estructura u ornamentación sean difíciles de apreciar.

El estudio de la ornamentación de las esporas ha obtenido, con la aplicación del SEM, un auge notable; así varios autores Besson-Antoine y Kühner (1972); Corbett (1970), Heywood (1969), Perrau y Heim (1969); Savile (1968); Schwinn (1969) y Zogg (1971), entre otros, han iniciado el estudio sistemático de distintos grupos de hongos utilizando aquella como criterio.

En la clase Teliomicetes (Uredinales y Ustilaginales) la ornamentación esporal juega un importante papel taxonómico (Savile, 1954). El interés se centra no sólo en las espinas sino también en las arrugas y retículos presentes en la superf

ficie de uredo y teleutosporas. Para poder observar estos detalles algunos autores como Durrieu y Rajariarison (1968) y Corbett (1970), han utilizado el microscopio electrónico de transmisión, realizando moldes de esporas u observando esporas clarificadas, pero la utilización del SEM ofrece imágenes más claras con técnicas más sencillas. Los caracteres de ornamentación han sido utilizados para distinguir especies y para separar variedades y poblaciones geográficas. El tamaño de las espinas y de los anillos y su posición relativa ha sido utilizado por Savile (1954, 1965, 1968) para separar poblaciones en puccinias parásitas de umbelíferas y escrofulariáceas. Con el mismo criterio Payak y col. (1967) estudiaron esporas de Puccinia graminis-tritici y Standbridge y Gay (1964), las de cuatro razas fisiológicas de Puccinia striiformis. En las especies de Ustilago parásitas de poligonáceas Durrieu y Rajeriarison (1969), encuentran seis tipos distintos de ornamentación relacionados en sentido evolutivo.

Material y métodos

Las muestras observadas procedían de plantas de distintas variedades de clavel, naturalmente infectadas por Uromyces caryophyllinus (Schr.) Wint. procedentes de los Campos Experimentales de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Barcelona y de diversas localidades de la zona de "El Maresme" (San Ginés de Vilasar, San Juan de Vilasar, San Vicente de Montalt, LLavaneras, Mataró, Premiá,

Teyá, etc.)

Las preparaciones fueron realizadas con material secado al aire, sin fijación previa, y posteriormente recubiertas al vacío con una capa de oro o de oro-paladio de unos 200 Å de grosor. Las observaciones se realizaron con un Stereoscan S-4 de la firma Cambridge Scientific Instruments Ltd., del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Barcelona. Las preparaciones para el microscopio óptico se hicieron montando las esporas directamente en ácido láctico y calentando ligeramente para lograr un máximo de hidratación.

Observaciones

Las uredosporas, observadas al microscopio óptico, aparecen de forma globosa-elipsoidal, oscilando su tamaño entre 18 a 20 de anchura y 24 a 32 de longitud. Nacen aisladas sobre esterigmas. El episporio tiene color caramelo, mide de 1,7 a 2 de grosor y presenta una fina equinulación de distribución regular. Las teleutosporas, unicelulares, aparecen lisas sin que se pueda observar ningún detalle en su superficie.

La utilización del SEM, incluso a aumentos iguales a los que se pueden obtener con el microscopio óptico (fot. nº 1), permite estudiar la morfología con mayor claridad. En la superficie se observa la presencia de espinas de forma cónica con la punta redondeada e inclinada respecto al eje de simetría, presentando además una ligera torsión levógira respecto a este eje.

(Fot. nº 2 y 3). La base de dichas espinas mide aproximadamente 0,8 y su altura es de ca.1 . Se encuentran distribuidas de manera uniforme formando círculos más o menos regulares. Se observa también la presencia de estructuras más finas en forma de anillos situados a su alrededor. Rodeando su base se encuentra una depresión a la que bordea un anillo grueso de ca. 2 de diámetro, alrededor del cual puede aparecer otro, concéntrico, menos grueso y de forma irregular. Una serie de formaciones mucho más débiles (arrugas lineales) se extiende entre los anillos más externos (ver fot. nº 2, flecha). En el grosor del anillo externo y de las arrugas lineales hay una notable variabilidad. Algunas veces hemos podido apreciar la presencia de grupos de dos espinas de base coalescentes rodeadas de un sólo anillo.

En las esporas germinadas, en las que el episporio aparece roto, se observa la estructura compacta y homogénea del mismo así como la regresión de las espinas, mientras que los demás detalles ornamentales se mantienen (Fot. nºs. 4 y 5). Esto demuestra que la formación de las espinas es debida a un proceso de secreción independiente de la formación de la pared de la espora y que el material de que están constituidas es mucho más sensible a la desecación. El episporio por su cara interna es liso y uniforme observándose únicamente las soluciones de continuidad que representan los poros germinativos.

Estos poros, cuyo diámetro oscila alrededor de las 2,5 están presentes en número de tres en cada espora. Durante la ger-

minación el promicelio rompe la pared a nivel de un poro germinativo facilitando así su salida (Fot. nº 6). Cuando la espora queda vacía, a partir de las grietas primarias, se forman las líneas de rotura, debido a las tensiones que provoca la deshidratación.

En la fot. nº 7 podemos observar teleutosporas junto con uredosporas. Las teleutosporas aparecen con una fina reticulación irregular que a veces adopta forma más o menos romboidal.

El análisis comparativo de las 20 muestras procedentes de distintas zonas de la comarca de El Maresme no ha permitido distinguir entre ellas diferencias ni en el tamaño ni en la morfología de la ornamentación esporal. El tamaño de las espinas y el diámetro del anillo interno son particularmente constantes. Las arrugas lineales y el anillo externo presentan una cierta variabilidad incluso dentro de las esporas procedentes de un sólo uredosporo. Desde el punto de vista morfológico podemos considerar todos los lotes examinados, un total de 12, como un conjunto homogéneo.

Discusión y conclusiones.

Gracias al empleo del SEM resulta posible establecer con seguridad las medidas de las ornamentaciones uredosporales de Uromyces caryophyllinus (Sch.) Wint. Así, podemos fijar la altura de las espinas en ca. 1 y el diámetro de su base en 0,8 . Este estudio ha revelado detalles hasta ahora desconocidos como la existencia de una depresión alrededor de la base de la espina,

de un anillo grueso de ca. 2 de diámetro rodeando esta depresión y de formaciones más finas entre los anillos. Con estos datos será posible verificar las medidas realizadas con microscopía fotónica.

La presencia del anillo que rodea la depresión puede ser consecuencia de la formación de las espinas. El anillo externo y las arrugas lineales pueden ser más bien atribuidos a la desecación de la pared primaria de la espora, pues se presentan de manera irregular y parecen claramente influenciados por la edad de la espora. Según Corlett (1970) y Savile (1968), las esporas de Puccinia coronata tienen un relieve secundario debido a que la pared primaria al secarse ocupa menos superficie, quedando algunas porciones entre los anillos formando las arrugas. El tratamiento que sufren las esporas para su observación también podría influir y sería conveniente que este tipo de muestras fuera sometido a una criodesecación previa.

Nuestros resultados demuestran que el material que constituye las espinas es distinto del que forma la pared de la espora y los anillos. Besson-Antoine (1972), estudiando la formación de las esporas en diversos grupos de agaricales con el microscopio electrónico de transmisión, encuentra que la densidad a los electrones del material que constituye las espinas es distinta de la del resto del episporio. El material que forma las espinas es segregado a través de la pared celular.

El significado taxonómico de los caracteres ornamentales de las esporas es aún objeto de controversia. En 1967,

Payak y col. encontraron diversidad morfológica en la ornamentación de dos razas de Puccinia graminis-tritici. La raza 42 y la raza 24 difieren según estos autores en que la primera tiene una depresión en la base de la espina, mientras que la segunda tiene la base al mismo nivel que la superficie del episporio o incluso ligeramente más elevada. La hipótesis de Savile 1954 (cit. Corlett, 1970) es que la morfología de las espinas, anillos y retículos es muy constante y puede ser utilizada para la distinción de especies, variedades, formas especiales, razas y poblaciones geográficas. Las experiencias de Durrieu y Rajeriarison (1969), apoyan esta hipótesis.

Debemos señalar, sin embargo, que otros autores difieren de este punto de vista. Stanbridge y Gay (1969), no encontraron diferencias morfológicas notables entre las esporas de 4 razas de Puccinia striiformis, pero hay que señalar que estos autores utilizaron el método de las réplicas observadas con el microscopio electrónico de transmisión.

Juzgar de una manera absoluta el valor taxonómico de estos hallazgos nos parece prematuro. Hacen falta comprobaciones sobre mayor número de especies para asignar su debido valor a cada carácter. En lo que respecta a las esporas de Uromyces caryophyllinus en la comarca de El Maresme podemos afirmar que constituyen desde el punto de vista morfológico un lote homogéneo que forma una única población geográfica. Como, por otra parte en experimentos de cultivo e inoculación artificial realizadas por uno de los autores, Molinas, nunca

se pudieron apreciar diferencias de comportamiento creemos que es válido pensar que se trata de una sola raza.

Bibliografía

- Besson-Antoine, M.; Kühner, R. 1972 "Les coudees de la paroi sporique des Rhodophyllacées (Agaricales) et leurs differentiations". C.R.Acad.Sci.Paris 275:1484-1494.
- Besson-Antoine, M; Kühner, R. 1972 "La paroi sporique et ses differentiations sommitales chez les Naucoriacées" C.R. Acad.Sci. Paris 274: 3091-3095
- Corlett, M. - 1970 "Surface structure of the urediniospores of Puccinia coronata f.sp. avenae" Can.J.of Bot. 48:2159-2161.
- Durrieu, G.; Rajariarison Ch. 1968 "L'ornamentation sporale des Ustilago parasites des poligonácees" C.R.Acad.Sci. Paris 267
- Heywood, V.H. 1969 "Scanning electron microscopy in the study of Plant materials" Micron, 1:1-14
- Juniper, B.E. and col. 1970 "Techniques for plant electron microscopy" Blackwell Scient.Pub. Oxford, 108
- Payak, M.N.; Joshi, L.M.; Mehta, S.M. 1967 "Electron microscopy of urediniospores of Puccinia graminis var. tritici" Phytopathol. Z. 60:196-199.

- Perrau, J. Heim, R. - 1969 "L'ornementation des basidiospores au microscope électronique à balayage" *Revue Mycol.* 33: 239-240.
- Savile, D.B.O. 1954 "Cellular mechanisms, taxonomy and evolution in Uredinales and Ustilaginales". *Mycologia*, 46:736-761.
- Savile, D.B.O. 1965 "Species of *Puccinia* attacking Veroniaceae (Scrophulariaceae) *Can. Journal of Bot.* 46:631-642
- Schwinn, F.J. 1969 "Die darstellung von pilzporen in rasten elektronenmikroskop" *Phytopath. Z.* 64:376-379.
- Stanbridge, B.; Gay J.L. 1969 "An electron microscope examination of surfaces of four races of *Puccinia striiformis*" *Trans.Mycol.Soc.* 53: 149-153.
- Zogg, H. Schwin, F.J. 1971 "Surface structures of spores of the ustilaginales" *Trans.Br.Mycol.Soc.* 57:403-410.

Resumen

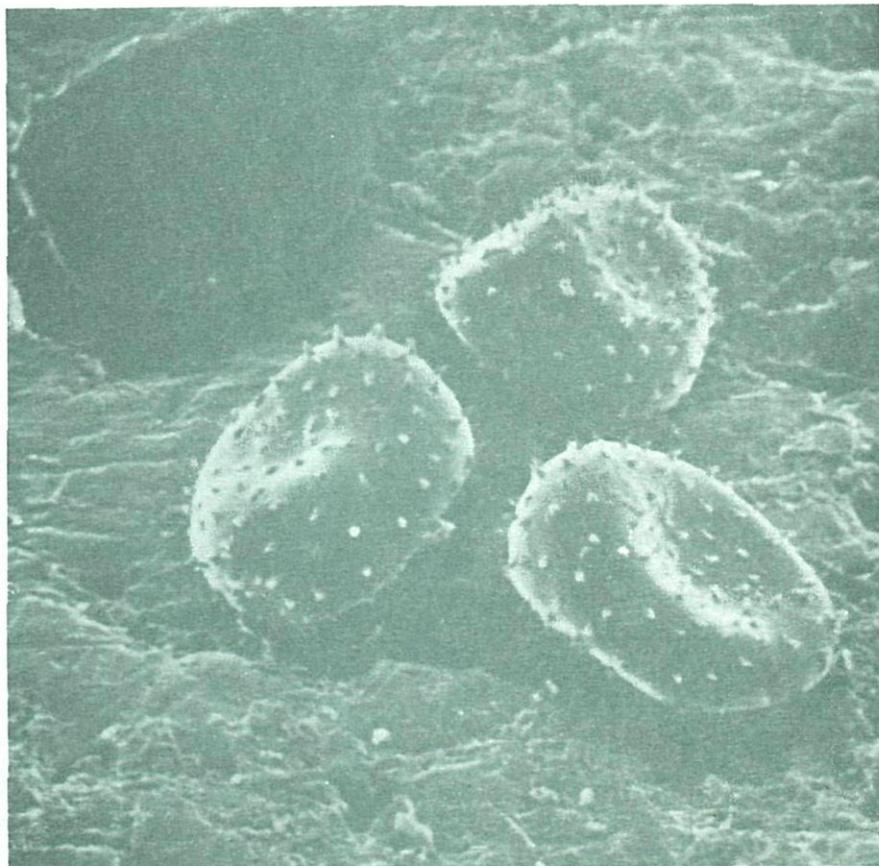
El estudio al SEM de uredosporas de *Uromyces caryophyllinus* (Schr.) Wint. muestra la distribución regular de espinas cónicas que miden 0,8 en la base y tienen 1 de altura, cuya punta aparece redondeada con una ligera torsión levógira y ligeramente inclinada respecto al eje de simetría. A su alrededor se encuentra una depresión bordeada por un anillo grueso de 2 alrededor del cual puede aparecer otro concéntrico, menos grueso y de forma irregular. Entre los anillos aparecen unas formaciones débiles (arrugas lineales). El episporio aparece compacto liso por su cara interna, la secreción del material de las espinas parece independiente.

El análisis comparativo de las muestras procedentes de 20 localidades de El Maresme no ha permitido distinguir diferencias pudiéndose afirmar que desde el punto de vista morfológico constituyen una única protección geográfica.

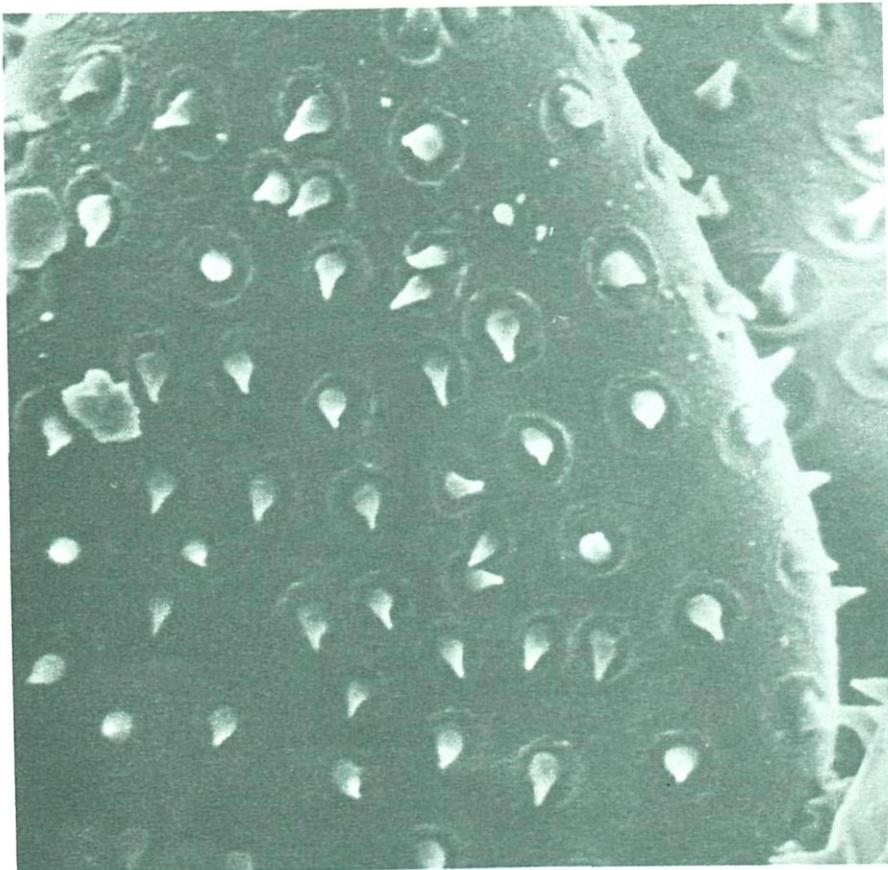
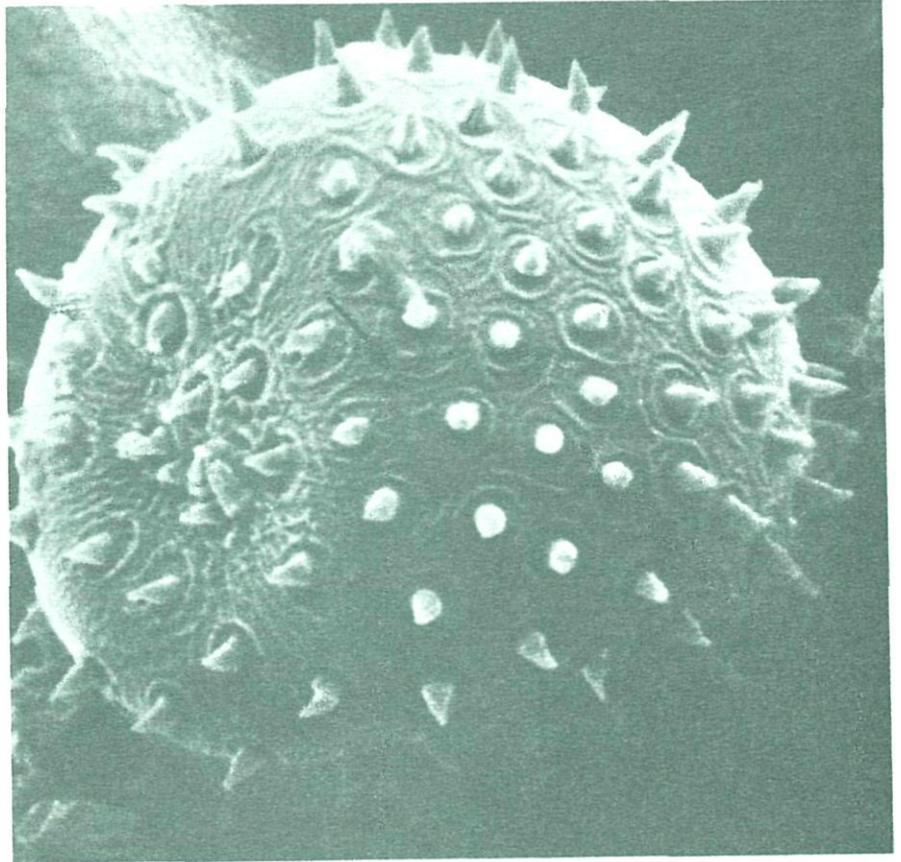
ilustraciones

Grupo de uresosporas de Uromyces caryophyllinus (Schr.)

Wint. 1.800 x.

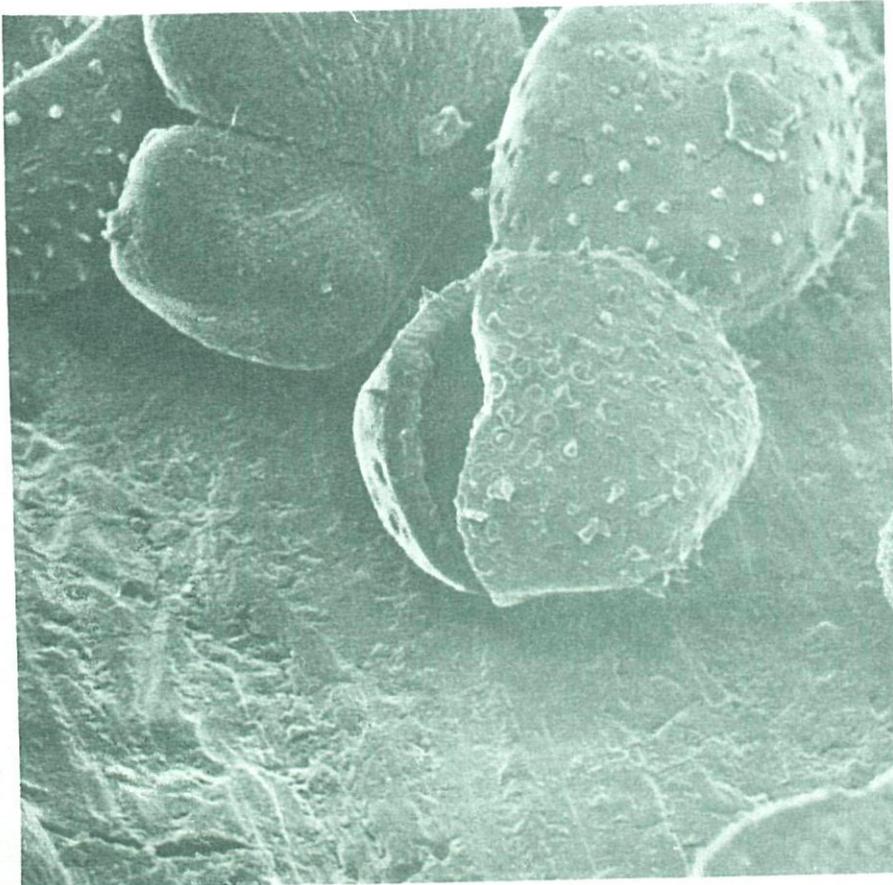
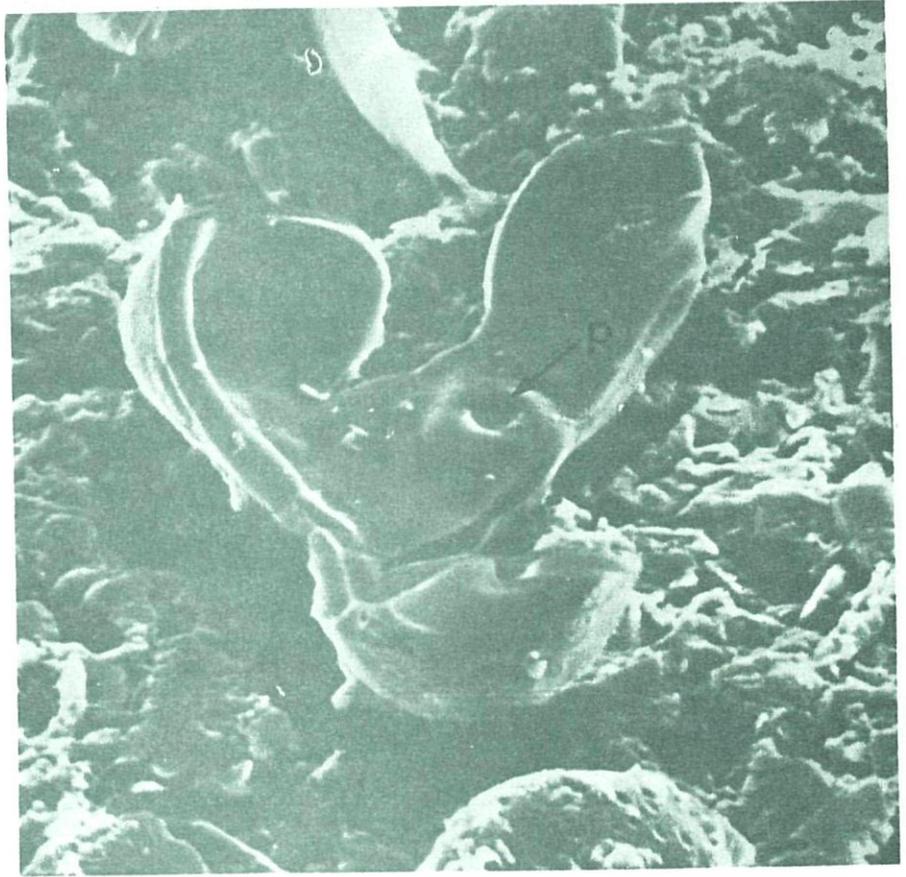


Aspecto de una uredospora a 5.480 x. Se puede observar la presencia de una depresión en la base de las espinas rodeada de un anillo grueso, a cuyo alrededor se forma otro anillo concéntrico más fino. Entre los anillos se extienden una serie de arrugas lineales (flecha).



Detalle de las espinas a 5.760 x. Se observa su forma cónica con la punta redondeada e inclinada respecto al eje de simetría y con una ligera torsión levógira respecto a este eje. La altura de las espinas es de ca. 1, y el diámetro de su base es de ca. 0'8.

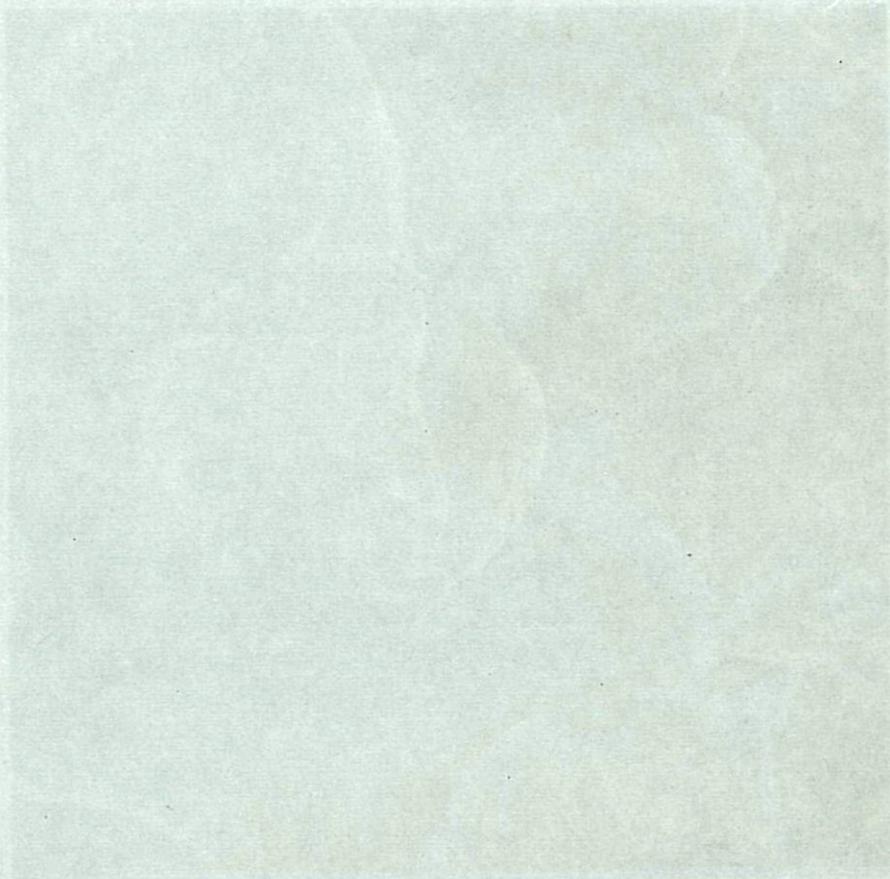
Restos del episporio después de la germinación de la espora. 2.760. Se observa la estructura lisa de la pared interna y la presencia de los poros germinativos. (p)



Uredospora germinada junto con teleutosporas 2.480 x. El episporio de la espora germinada aparece desprovisto de espinas mientras se mantiene el resto de la ornamentación.

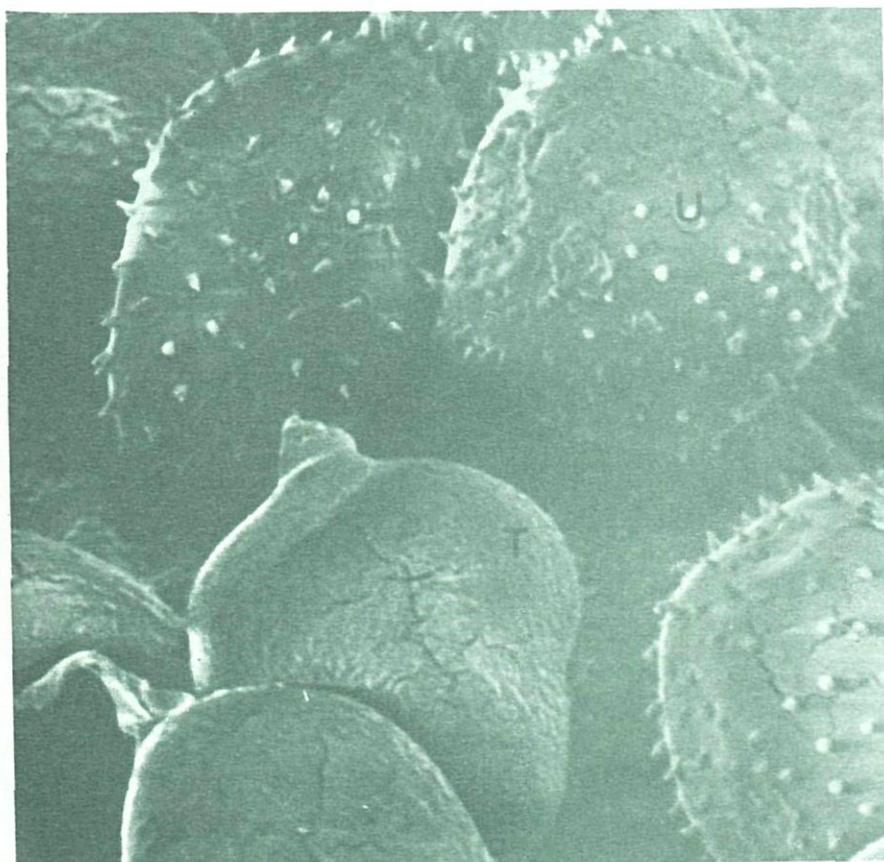
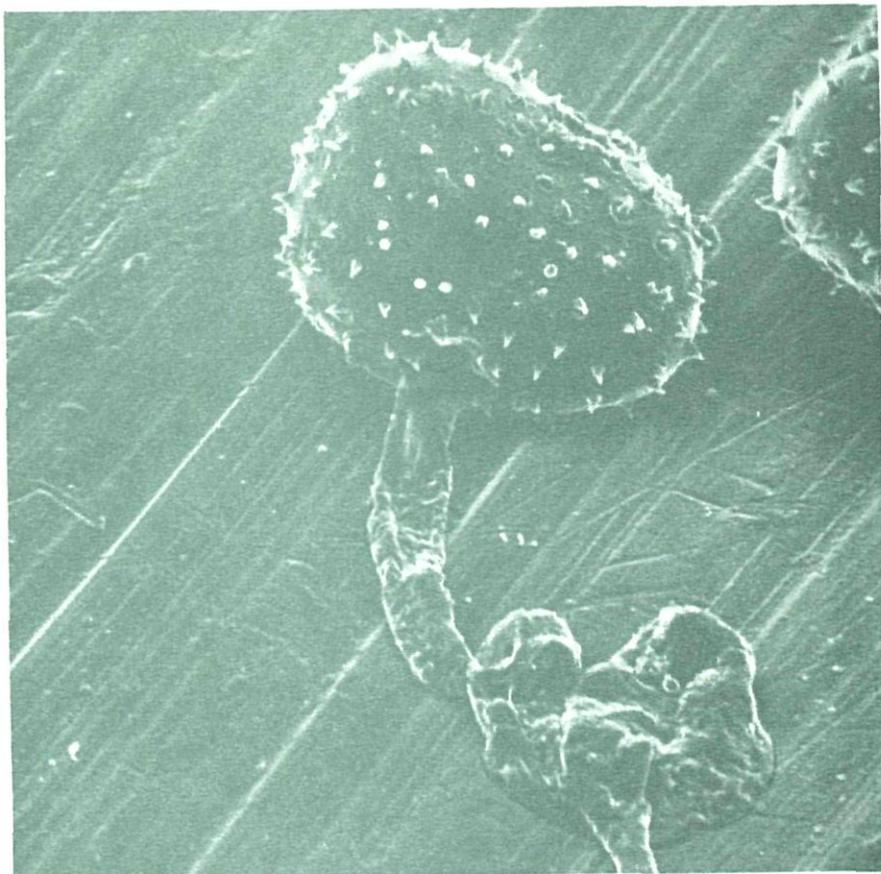


Factor del valor de
que de la cantidad
de la zona. 1.50 de
cuando la estructura
de la zona. 1.50 de
en la zona. 1.50 de
los datos. 1.50 de



Factor del valor de
que de la cantidad
de la zona. 1.50 de
cuando la estructura
de la zona. 1.50 de
en la zona. 1.50 de
los datos. 1.50 de

Aspecto de una uresospora durante la germinación 2.300 x. El promicelio sale a través de un poro germinativo provocando la rotura del episporio.



Uredo (u) y teleutospo-
ras (a) 2.390 x. Las
teleutosporas presen-
tan en su superficie
una fina reticulación
irregular.